

Title	The Zinc Transporter SLC39A14/ZIP14 Controls G-Protein Coupled Receptor-Mediated Signaling Required for Systemic Growth
Author(s)	北條, 慎太郎
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59047">https://hdl.handle.net/11094/59047</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">ご参照</a> ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	ほう じょう しん たろう 北 條 慎 太 郎
博士の専攻分野の名称	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	第 2 4 8 4 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 23 年 6 月 20 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科予防環境医学専攻
学 位 論 文 名	The Zinc Transporter SLC39A14/ZIP14 Controls G-Protein Coupled Receptor-Mediated Signaling Required for Systemic Growth (亜鉛トランスポーター SLC39A14/ZIP14 は全身性成長に必要な G 蛋白質共役型受容体を介したシグナル伝達を制御する。)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 竹田 潔 (副査) 教 授 大 菌 恵一 教 授 吉川 秀樹

## 論 文 内 容 の 要 旨

## 〔 目 的 〕

亜鉛は必須微量元素の一つであり、その恒常性の破綻は成長障害を伴う内分泌系の異常を引き起こすことが知られている。しかしながら、哺乳類の内分泌系の制御における亜鉛の役割はほとんど解明されていない。亜鉛の恒常性は亜鉛トランスポーターによって制御されている。我々は、哺乳類における亜鉛恒常性機構の役割を明らかにするために、全身性成長に重要な役割を担う軟骨細胞および脳下垂体細胞の両細胞種に発現している亜鉛トランスポーター SLC39A14/ZIP14に着目し、そのノックアウト (KO) マウスを解析した。

## 〔 方 法 な ら び に 成 績 〕

作製した *Zip14*-KO マウスは成長遅延、四肢短小、側彎、軽度骨粗鬆の表現型を呈していた。このマウスの脛骨軟骨成長板においては、形態学的に増殖軟骨層が縮小し前肥大・肥大軟骨細胞の伸長が見られ、さらに *Indian hedgehog* (*Ihh*) や *Type X collagen* (*Col10a1*) 等の前肥大・肥大軟骨細胞の分化マーカーの顕著な増加が認められたことから、ZIP14は増殖軟骨細胞から肥大軟骨細胞への分化制御に必須であることが示唆された。副甲状腺ホルモン関連ペプチド (PTHrP) はその受容体である PTH1R を介して増殖軟骨細胞の肥大化を抑制することが知られている。ZIP14が関与している生物学的現象を分子レベルで解明する為に、まず G 蛋白質共役型受容体 (GPCR) である PTH1R のシグナル伝達機構について調べた。その結果、*Zip14*-KO マウス由来の初代軟骨細胞では、PTHrP 刺激後の転写因子 CREB のリン酸化およびその上流のプロテインキナーゼ A 触媒サブユニットアルファ (PKA-C $\alpha$ ) の核内移行の減弱化が認められた。PKA の活性化は、アデニル酸シクラーゼ (AC) を介して産生される環状アデノシンリン酸 (cAMP) によって惹起される。次に PTHrP 刺激後の cAMP 産生量を調べたところ、野性型と *Zip14* 欠損軟骨細胞の間に差異は認められず、*Zip14* 欠損細胞に AC の活性化の異常はないと考えられた。しかしながら、*Zip14* 欠損軟骨細胞では cAMP レベルが恒常的に減少しており、詳細な検討の結果、cAMP 分解酵素であるフォスフォジエステラーゼ (PDE) の活性亢進が明らかになった。また、ZIP14 は軟骨細胞の細胞膜に局在しており、*Zip14* 欠損軟骨細胞では野性型と比べて細胞内亜鉛レベルの有意な減少が認められ、亜鉛を強制移入することによって PDE 活性が抑制され、同時に cAMP レベルも回復した。さらに、*Zip14* 欠損軟骨細胞に ZIP14 を過剰発現させると、細胞内亜鉛と cAMP レベルがともに回復したことから、ZIP14 は細胞内へ亜鉛を取り込んで PDE 活性を抑制し、cAMP の基底レベルを維持することによって GPCR シグナル伝達を介した骨成長を制御していることが明らかとなった。

全身性成長に重要な役割を果たす成長ホルモン(GH)は脳下垂体細胞から分泌され、その産生と放出はGPCRである成長ホルモン放出ホルモンレセプター(GHRHR)のシグナル伝達によって制御されている。下垂体細胞について軟骨細胞と同様に精査したところ、*Zip14*欠損下垂体細胞ではcAMPレベルおよび細胞内亜鉛レベルの減少が認められた。また、野性型と*Zip14*-KOマウスにGHRHの過剰的投与を行うと、野性型マウスで観察される血中GHレベルの増加が、*Zip14*-KOマウスではほとんど認められなかった。さらに、GHの作用によって産生されるインスリン様成長因子(IGF-1)の肝臓内mRNAレベルは*Zip14*-KOマウスにおいて有意に減少していた。すなわち、*Zip14*-KOマウスはGH分泌不全様の表現型を呈していることが明らかとなった。異常の結果から、ZIP14は軟骨細胞のみならず、脳下垂体においてもGPCRシグナル伝達を介したGHの産生・放出を制御し、全身性成長をコントロールしていることが判明した。

#### 〔 総 括 〕

ZIP14は骨組織、脳下垂体において、亜鉛の取り込みを介して細胞内cAMP量を維持し、GPCRシグナル伝達を正に制御している様相が明らかとなった。これらの結果は、亜鉛トランスポーターZIP14が哺乳類の全身成長に重要であること、さらにGPCRを介した内分泌系のシグナル伝達制御に深く関与していることを示唆するものである。

#### 論文審査の結果の要旨

亜鉛は必須微量元素の一つであり、その恒常性の破綻は成長障害を伴う内分泌系の異常を引き起こすことが知られている。申請者は哺乳類における亜鉛恒常性機構の役割を明らかにするために、個体での機能が解明されていなかった亜鉛トランスポーター SLC39A14/ZIP14のノックアウト(KO)マウスを作製して解析した。*Zip14*-KOマウスは軟骨細胞の分化異常、成長ホルモン産生の減少を伴う成長遅延の表現型を呈し、この原因として環状アデノシンリン酸(cAMP)の分解促進によるG蛋白質共役型受容体(GPCR)シグナル伝達の異常を見出した。申請者の一連の研究は、亜鉛トランスポーターがGPCRを介した内分泌系のシグナル伝達制御に関与し、哺乳類の全身成長に重要であることを強く示唆するものである。本論文は、個体成長において栄養学的視点で重要視されてきた亜鉛の役割を分子生物学的に明らかにしたものであり、申請者は博士(医学)の学位授与に値すると判断する。